

09/762249
PCT/FR 99 / 0 1 4 7 9

INPI

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

EJU

FR 99/1479

REC'D 07 JUL 1999

WIPO

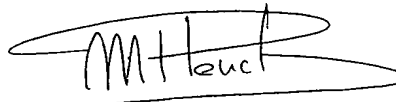
PCT

BREVET D'INVENTION**CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION****COPIE OFFICIELLE**

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **24 JUIN 1999**

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets



Martine PLANCHE

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE

26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS Cédex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30

THIS PAGE BLANK (USPTO)

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES

05/08/98

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

98 10077 -

DÉPARTEMENT DE DÉPÔT

DATE DE DÉPÔT

75 AOUT 1998

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

CABINET REGIMBEAU
26, Avenue Kléber
75116 PARIS

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

☒ brevet d'invention

☐ demande divisionnaire

☐ certificat d'utilité

☐ transformation d'une demande
de brevet européen

☐ demande initiale

☐ brevet d'invention

n° du pouvoir permanent

références du correspondant

téléphone

235797 D16333 FFP

01 45 00 92 02

☐ certificat d'utilité n°

date

Établissement du rapport de recherche

☐ différé

☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

☐ oui

☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

Gènes impliqués dans les voies moléculaires de la suppression tumorale et/ou la résistance
aux virus

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH

Forme juridique

FONDATION DE DROIT PRIVE

Nationalité (s) Française

Adresse (s) complète (s)

27, rue Juliette Dodu, 75010 PARIS

Pays

FR

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre ☐

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

☐ oui

☒ non

Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

☐ requise pour la 1ère fois

☐ requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS

antérieures à la présente demande n°

date

n°

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

(nom et qualité du signataire)

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI


92-1001



DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

DEPARTEMENT DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg

75800 Paris Cédex 08

Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL *

98 1007

TITRE DE L'INVENTION : Gènes impliqués dans les voies moléculaires de la suppression tumorale et/ou la résistance aux virus

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH
27, rue Juliette Dodu, 75010 PARIS

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

AMSON Robert
10, rue Gay Lussac
75005 Paris, FR

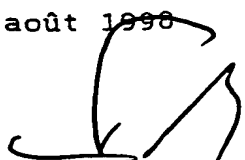
TELERMAN Adam
12, rue de la Chaise
75007 Paris, FR

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

5 août 1998

CABINET REGIMBEAU


92-1001

DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS

PAGE(S) DE LA DESCRIPTION OU DES REVENDECATIONS OU PLANCHE(S) DE DESSIN			R.M.*	DATE DE LA CORRESPONDANCE	TAMPON DATEUR DU CORRECTEUR
Modifiée(s)	Supprimée(s)	Ajoutée(s)			
35, 15e22, et 24e26			α	12.01.99	19 JAN 1999 - SR

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention «R.M.» (revendications modifiées).

5 La présente invention concerne la mise en évidence de gènes impliqués dans les voies moléculaires de la suppression tumorale et/ou de la résistance aux virus.

La présente invention a été rendue possible par l'isolement d'ADNc correspondant à des ARN messagers exprimés ou réprimés lors de la
10 suppression tumorale et/ou lors du processus d'apoptose induit par le gène suppresseur p53.

L'un des gènes suppresseurs les plus importants impliqués dans l'apoptose est le gène p53. Dans sa fonction normale, ce gène contrôle la croissance cellulaire et le processus d'apoptose ; en particulier, c'est ce gène
15 qui bloque la croissance cellulaire et qui doit induire le processus apoptotique afin d'éviter le développement d'un cancer. On a ainsi mis en évidence que des souris nullizygotes pour le p53 étaient beaucoup plus sensibles à la formation de tumeurs. On a également mis en évidence le fait que, dans les cancers, le gène p53 était très souvent altéré et conduisait à la production de protéines
20 incapables de véhiculer le message d'apoptose.

C'est cette particularité qui a été mise en œuvre dans le cadre de la présente invention.

En effet, la présente invention repose sur la constatation qu'il n'est pas possible, ou du moins qu'il paraît très difficile, de mettre en place une thérapie
25 de substitution directe lors d'un dysfonctionnement du gène p53. En effet, le p53 muté comme il l'est dans le cancer va annuler l'effet physiologique du p53 normal.

Il a donc fallu renoncer, du moins dans un premier temps, à une thérapie de substitution agissant directement au niveau de p53.

30 La présente invention s'est donc attachée à étudier les gènes situés en aval de p53 afin de « bipasser » la difficulté évoquée précédemment.

Afin d'isoler les gènes activés ou inhibés par le p53 normal (wild-type p53) on a effectué un ratissage global de l'expression des gènes dans une lignée maligne (K562) et une cellule dérivée (KS) avec une suppression du phénotype malin, plus particulièrement dans une cellule exprimant le p53 normal (KS) dans sa fonction et dans une cellule n'exprimant pas de p53 (K562). La comparaison des gènes exprimés (ARN messagers exprimés dans les deux types de cellule) a permis de mettre en évidence des gènes exprimés différemment, c'est-à-dire exprimés dans l'une des cellules alors qu'ils ne le sont pas dans l'autre (les gènes peuvent être activés ou inhibés).

On en déduit aisément que ces gènes sont impliqués dans le processus de cancérisation, dans un cas par leur absence, et, dans l'autre cas, par leur présence.

Pour cette étude différentielle, la méthode utilisée est la méthode décrite en 1992 par Liang et Pardee (Differential display o eucaryotic mRNA by mean of a polymerase chaine reaction).

L'approche du problème selon la présente invention a permis d'isoler des séquences directement reliées à une fonction. Dès lors, au contraire du séquençage aléatoire des EST, les séquences sont des séquences dont la fonction est connue et qui sont impliquées dans le processus de suppression du phénotype malin et/ou d'apoptose induit par le gène suppresseur p53 et/ou dans la résistance aux virus.

Ainsi, la présente invention concerne de nouvelles séquences et les gènes les comportant ainsi que l'utilisation de ces séquences, tant au niveau du diagnostic qu'au niveau de la thérapie, de même que pour la réalisation de modèles destinés à tester des produits anti-cancéreux et anti-viraux.

La présente invention concerne tout d'abord une séquence nucléotidique correspondant à un gène comportant :

- (a) une séquence selon l'une des IND.SEQ 1 à 15 ou un gène équivalent qui comporte:
- (b) une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a),
- (c) une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec (a) ou (b), ou

(d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b) ou (c) ou pour une protéine équivalente, et leur application notamment dans la suppression du cancer et/ou la résistance aux virus ainsi que dans le suivi thérapeutique.

5 Il convient de rappeler que les séquences 1 à 15 ne constituent qu'une partie des gènes en cause mais que la présente invention couvre aussi bien la séquence nucléotidique correspondant au gène entier que des fragments de ce gène, notamment lorsqu'ils codent pour une protéine équivalente comme cela sera décrit ci-après.

10 Les séquences nucléotidiques peuvent être aussi bien de l'ADN que de l'ARN ou des séquences dans lesquelles certains des nucléotides sont non naturels, soit pour améliorer leurs propriétés pharmacologiques, soit pour permettre leur identification.

15 Les séquences mentionnées en (b) sont essentiellement les séquences complémentaires totales ou partielles (notamment pour les cas évoqués précédemment).

20 Ainsi, l'invention concerne également les séquences nucléotidiques des gènes présentant une forte homologie avec les gènes mentionnés précédemment, de préférence une homologie supérieure à 80 % sur les parties essentielles desdits gènes, soit en général au moins 50 % de la séquence, de préférence l'homologie sera sur ces parties supérieure à 90 %.

25 Enfin, lorsque lesdits gènes codent pour une protéine, la présente invention concerne également les séquences codant pour la même protéine, compte tenu de la dégénérescence du code génétique, mais également pour les protéines équivalentes, c'est-à-dire produisant les mêmes effets, notamment les protéines délétées et/ou ayant subi des mutations ponctuelles.

30 Les séquences selon la présente invention sont plus particulièrement les séquences qui sont induites ou inhibées lors de l'apoptose cellulaire, notamment celles induites par p53 et/ou p21 et/ou TSAP3 (HUMSIAH) et/ou antisens-TSIP2 (antisens-PS1).

Lesdits gènes sont regroupés en TSAP ou "Tumor Suppressor Activated

Pathway", et dénommés de TSAP 9 à TSAP 22 correspondant aux IND.SEQ 1 à 14, et en TSIP ou "Tumor Suppressor Inhibited Pathway", et dénommé TSIP 3, correspondant à IND.SEQ 15.

5 Les caractéristiques des séquences sont rassemblées dans les tableaux ci-annexés.

Les séquences nucléotidiques correspondant aux gènes TSAP sont des séquences exprimées lors du processus d'apoptose alors que lorsqu'ils ne sont pas exprimés le processus d'oncogénèse se poursuit. Il est donc intéressant:

- de détecter toute anomalie dans le gène correspondant, laquelle peut conduire
- 10 à une plus grande susceptibilité à l'oncogénèse, et
- de pouvoir prévoir une thérapie de remplacement.

Il faut d'ailleurs rappeler que ces gènes peuvent intervenir dans d'autres processus que les processus de suppression tumorale ; en effet, p53 est en quelque sorte le gardien de l'intégrité du génome, dans ces conditions les gènes

15 TSAP ou TSIP sont sans doute également impliqués dans cette fonction de contrôle, c'est donc l'ensemble des altérations possibles du génome qui peuvent être redevables de la détection et de la thérapie précédente. Au contraire, les gènes TSIP sont exprimés lors de l'oncogénèse et cette expression est diminuée voire inhibée lors de l'apoptose et de la suppression tumorale, il est donc là

20 aussi intéressant de détecter l'éventuelle anomalie des TSIP et également de prévoir une thérapie d'inhibition/blocage.

La thérapie de remplacement pourra être effectuée par thérapie génique, c'est-à-dire en introduisant le gène TSAP avec les éléments qui permettent son expression in vivo. Les principes de la thérapie génique sont connus. On peut

25 utiliser des vecteurs particuliers, viraux ou non viraux, par exemple des adénovirus, rétrovirus, virus herpès ou poxvirus. La plupart du temps ces vecteurs sont utilisés sous forme défectifs qui serviront de véhicules d'expression de TSAP avec ou sans intégration. Les vecteurs peuvent être également synthétiques, c'est-à-dire mimer des séquences virales, ou bien être

30 constitués par de l'ADN ou de l'ARN nu selon la technique développée notamment par la société VICAL.

Dans la plupart des cas, il faudra prévoir des éléments de ciblage assurant une expression tissus ou organes spécifiques, en effet, il n'est pas possible d'envisager d'activer un phénomène d'apoptose incontrôlé.

La présente invention concerne donc l'ensemble des vecteurs décrits
5 précédemment.

La présente invention concerne également les cellules transformées par un vecteur d'expression tel que décrit précédemment ainsi que la protéine pouvant être obtenue par culture de cellules transformées.

Les systèmes d'expression pour produire des protéines peuvent être
10 aussi bien des systèmes eucaryotes tels que les vecteurs précédents que des systèmes procaryotes dans des cellules de bactéries.

L'un des intérêts de la présente invention est qu'elle a mis en évidence l'implication de plusieurs gènes dans l'apoptose ; ainsi, la surexpression de l'un des gènes par thérapie génique peut, pour certains d'entre eux, ne conduire à
15 l'apoptose que les cellules dans lesquelles s'expriment déjà d'autres gènes déréglés, c'est-à-dire des cellules malignes.

La présente invention concerne également, à titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques précédentes lorsqu'elle est induite lors de l'apoptose et/ou de la
20 suppression tumorale, notamment des gènes TSAP 9 à TSAP 22, ou au contraire assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins une séquence cellulaire telle que décrite précédemment lorsqu'elle est inhibée lors de l'apoptose et/ou de la suppression tumorale, notamment TSIP 3.

Il est, par exemple, possible de prévoir d'autres approches que la
25 thérapie génique, notamment l'utilisation de séquences nucléotidiques en stratégie sens ou antisens, c'est-à-dire pouvant bloquer l'expression de TSIP ou au contraire, agissant en amont, favorisant l'expression de TSAP.

On peut également prévoir une stratégie de remplacement directe par apport de protéines correspondant à TSAP ou d'anticorps inhibiteurs
30 correspondant à TSIP.

Enfin, il est possible de prévoir l'utilisation de molécules non protéiques

dont l'activité sera d'activer TSAP ou de mimer l'action de son produit d'expression ou bien d'inhiber TSIP ou bien de bloquer l'action de son produit d'expression.

5 Ces produits peuvent être aisément testés sur les cellules modifiées qui sont décrites dans les exemples en introduisant les produits à tester dans la culture cellulaire et en détectant l'apparition du phénomène apoptotique. Dans les stratégies à ADN, ARN ou protéique les produits sont bien entendu élaborés en fonction des séquences qui sont décrites.

10 La présente invention concerne en particulier l'utilisation des médicaments précédents en tant qu'agent anti-cancéreux.

Mais le produit des gènes TSAP 9 à 22 et TSIP 3 est également utile comme agent antiviral, comme cela apparaîtra à la lecture de l'exemple.

La présente invention concerne donc également l'utilisation des médicaments précédents comme agent antiviral.

15 De plus, la présente invention concerne à titre d'agent de diagnostic pour la détermination de la prédisposition au cancer, tout ou partie des séquences selon l'invention à utiliser comme sonde nucléotidique ou comme amorce d'amplification, mais également à titre d'agent de diagnostic pour la détermination de la prédisposition au cancer un antigène correspondant à tout
20 ou partie des protéines codées par la séquence selon l'invention ou les anticorps correspondants, éventuellement après culture.

Les méthodes de diagnostic sont connues, il peut s'agir, par exemple, de techniques de microséquençage des parties variables après isolement et amplification éventuelle ou des méthodes de détection type RFLP ou
25 d'amplification simple notamment. Les techniques différentielles peuvent, en particulier, permettre de mettre en évidence l'écart entre le TSAP ou TSIP normal et anormal.

L'invention concerne également des modèles mettant en oeuvre les séquences précédentes.

30 D'autres caractéristiques de l'invention apparaîtront à la lecture de l'exemple ci-après.

MATERIELS ET METHODES

Cultures cellulaires

5 Les cellules K562, KS, KS2 et KS3 ont été utilisées comme modèles. La lignée K562 est une lignée tumorale, dérivée d'une leucémie chronique de type érythromyéloïde. Elle est caractérisée notamment par un chromosome de Philadelphie qui contient la translocation (9,22), où il y a un réarrangement du gène bcr avec le proto-oncogène abl. Cette lignée a par ailleurs un caryotype anormal et surexprime les oncogènes myc et pim-1. Ces lignées sont décrites dans la référence A. Telerman et al. : A model for tumor suppression using H-1 parvovirus, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 90, pp. 8702-8706, September 1993.

15 En résumé, un monoclonal de K562 a été infecté par le parvovirus H-1. Cette infection a causé une mort massive de la culture cellulaire. Après un maintien de cette culture pendant une période de deux mois, le clone KS a été isolé. La même expérience effectuée une seconde fois a fourni, après trois mois d'incubation, les clones KS2 et KS3.

20 En employant la même approche, les inventeurs ont dérivé d'une population de cellules malignes U937 les lignées US3 et US4 qui sont résistantes au parvovirus H-1 et qui présentent une suppression du phénotype malin. Ces lignées sont décrites dans la référence (7).

25 Des cellules de leucémie myéloïde M1 et des cellules M1 ont été transfectées de façon stable avec un mutant sensible à la température val 135 p53 (LTR6).

Ces cellules sont cultivées sur milieu RPMI 1640 avec 10 % FCS à 5 % de CO₂ à 37°C (3). Pour la modification de la température, les cultures sont placées dans un second incubateur à 32°C.

30 Lignée U937 transfectée par p21^{WAF1} : la partie codante complète du cDNA du gène p21^{WAF1} a été clonée dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie. 3,5 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20

microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée, décrivent notamment une suppression du phénotype malin.

5 Lignée U937 transfectée par TSIP2 (PS1) en position antisens : la partie codante complète du cDNA du gène TSIP2 (PS1) a été clonée en position antisens dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie). 3 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20 microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

10 Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée, décrivant notamment un ralentissement de la croissance, une activation de l'apoptose et une suppression du phénotype malin, ont été décrites dans la référence (8).

15 Lignée U937 transfectée par TSAP3 (HUMSIAH) : la partie codante complète du cDNA du gène TSAP3 a été clonée dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie). 3 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20 microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

20 Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée, comportent notamment une activation de l'apoptose et une suppression du phénotype malin.

Etude des ADNc différentiels

25 Pour effectuer les tests dans des conditions expérimentales standards et pour obtenir une reproductivité totale des résultats, les modifications suivantes au protocole d'origine (1) ont été effectuées :

30 On utilise toujours des ARNm polyA⁺ purifiés deux fois sur colonne d'oligodT utilisant Fast Track (Invitrogen, San Diego CA). Après transcription reverse (M-MLV Reverse Transcriptase, Gibco BRL) sur 0,05 µg de polyA⁺ utilisant 20 µM de chacun des dNTP (Boehringer-Mannheim), aucun dNTP additionné n'est ajouté au mélange de PCR final. Un « hot start » à 94°C

pendant 5 minutes est effectué avant la PCR (GeneAmp PCR system 9600 Perkin Elmer Cetus). Les échantillons sont refroidis rapidement sur de l'eau glacée. Un « touch down » (2) de 10 cycles de 50°C à 40°C est effectué (94°C 30 secondes – 50°C 1 minute – 72°C 30 secondes), suivi par 35 cycles (94°C 30 secondes – 40°C 1 minute – 72°C 30 secondes) et une extension finale de 5 minutes à 72°C. Les produits de la PCR sont séparés sur gels de polyacrylamide à 6 % non dénaturant (4). Les gels sont exposés sans séchage. Chaque présentation différentielle est effectuée en comparant MIS6 et LTR6 à 37°C et après 4 heures d'incubation des deux lignées cellulaires à 32°C.

10 La procédure de présentation différentielle est répétée dans 3 expériences différentes pour confirmer une parfaite reproductibilité.

Les bandes exprimées différentiellement sont découpées à partir du gel, éluées et réamplifiées (1). Les produits de PCR sont sous-clonés en utilisant le système TA-cloning (Invitrogen, San Diego CA) en suivant les indications 15 fournies.

Pour chaque réaction de ligation, 10 clones recombinants sont séquencés en utilisant le système automatique ABI.

Extraction des ARN, analyses et sondes Northern blots

20 L'ARN total est extrait avec du Trizol (Life Technologies). Les ARN polyI+ sont préparés en utilisant le kit OligotexdT (Qiagen, CA). 30 µg de l'ARN total ou 2 µg d'ARN polyA+ sont séparés sur agarose 1 % 1 x MOPS/2 % gel de formaldéhyde, transférés sur membrane de nylon (Hybond N+, Appligène, France) comme cela a été décrit précédemment (5). Les Northern 25 blots sont hybridés avec des sondes marqués au P³² sur les inserts TSAP et TSIP et lavés comme décrit précédemment (5). Pour vérifier l'induction de la fonction du p53 sauvage, les Northern blots sont hybridés avec une sonde cycline G (6). A titre de contrôle pour la quantité d'ARNm chargée, les blots sont hybridés avec une sonde GAPDH. Différents Northern blots (Clontech 30 CA) sont utilisés dans des conditions identiques et hybridés pour contrôle avec une sonde β-actine. Les Northern blots sont exposés pendant 10 jours à – 80°C.

Exemple 1

Le but recherché est de caractériser les voies moléculaires qui mènent à la suppression du cancer.

5 De façon à élaborer un modèle, on a fait l'hypothèse suivante : s'il était possible de sélectionner, à partir d'une tumeur qui soit sensible à l'effet cytopathique du parvovirus H-1, les cellules qui étaient résistantes, cette résistance pourrait être due à un changement de leur phénotype malin. Ceci a pu être démontré pour les cellules KS sélectionnées à partir des cellules
10 érythro-leucémiques K562. Contrairement à la lignée parentale K562, les clones KS, KS2 et KS3 sont résistants à l'effet cytopathique du parvovirus H-1. En outre, les cellules KS, KS2 et KS3 ont une réduction de leur tumorigénicité de 90 %, alors que cultivées dans du "soft agar", ces mêmes lignées KS ont une réduction de leur tumorigénicité in vivo lorsqu'injectées dans des souris
15 immunodéprimées Scid-Scid. Au niveau moléculaire, on a pu remarquer que cette suppression du phénotype malin allait de pair avec une réexpression du gène suppresseur p53.

15 ADNc exprimés de manière différentielle entre les cellules K562 et KS ont été isolés. TSAP 9 est homologue aux chaperonines.

20 Le Tableau 1 rassemble les molécules caractérisées, en reprenant les amorces ainsi que les tailles des mRNAs détectés par Northern blot.

De ces 15 molécules, toutes sont induites dans les cellules KS, hormis TSIP 3, dont l'expression est inhibée durant la suppression du phénotype malin.

25 Dans des expériences de transfection, on a également pu démontrer que la résistance à l'effet cytopathique du parvovirus H-1 allait de pair avec une fonction intacte du gène p53 et que des cellules transfectées avec des mutants p53 devenaient sensibles à l'effet cytopathique du parvovirus H-1.

30 Les 15 molécules que nous avons isolées codent donc des gènes dont la surexpression (TSAP 9 – TSAP 22) ou l'inhibition (TSIP 3) est associée non seulement à la suppression du cancer mais également à la résistance au parvovirus H-1. Ces gènes codent par conséquent pour des molécules faisant

partie des voies moléculaires de la suppression du cancer et sont de potentiels gènes suppresseurs.

Afin de mieux cerner les voies d'activation p53/p21, les inventeurs ont étudié :

- 5 - l'activation de ces TSAP / inhibition des TSIP dans le modèle p53 thermosensible développé dans Moshe Oren,
- l'activation de ces TSAP / inhibition des TSIP dans le modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène p21,
- l'activation des nouveaux TSAP / inhibition des TSIP dans le
10 modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène TSAP3, et
- l'activation de ces nouveaux TSAP/TSIP dans le modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène TSIP2 (PS1) en position antisens.

Le Tableau I ci-après rend compte de résultats d'expressions
15 différentielles analysées par Northern blot des différentes sondes (TSAP9-TSAP22, TSIP3) du modèle K562/KS ainsi que des autres modèles U937/US3-US4, c'est-à-dire dans un modèle de suppression tumorale dans lequel le gène p21 est activé par la voie p53 indépendante. Ces ADNc sont donc activés dans deux systèmes cellulaires différents de suppression tumorale (le modèle
20 d'érythroleucémie K562/KS et le modèle myélomonocytaire U937/US).

D'après ce tableau, on constate que dans la majeure partie des cas, les gènes exprimés différemment dans le modèle K562/KS sont également exprimés différemment dans le modèle U937/US3-US4. Il existe donc une
machinerie moléculaire de la suppression tumorale commune à différents types
25 de cancer. Cette conclusion est également valable pour le modèle M1/LTR-6. Il faut noter dans ce dernier cas que l'absence de signaux dans certains TSAP-TSIP est probablement due au fait que les expérimentations ont été réalisées dans deux systèmes hétérologues (des sondes humaines sur de l'ARN de
souris).

TABLEAU 1

CLONE A EXPRESSION DIFFERENTIELLE	AMORCES 3' ET 5' *	SONDE ADN ^c K562/KS	HOMOLOGIE	MODELE K562/KS
				mRNA kb
TSAP 9	T11AA-9	K26 D3	Chaperonine α	2,6
TSAP 10	T11AA-9	K25.0 A11		1,6
TSAP 11	T11AA-9	K25.0 B7	EST	2,9
TSAP 12	T11AA-9	K27.1 C7	EST	5,5
TSAP 13	T11AA-23	K25.1 F3	EST	1,8
TSAP 14	T11AC-5	K33.2 F10	EST	2,5
TSAP 15	T11AG-19	K22 E3	EST	1,6
TSAP 16	T11GC-2	K12.1 F5		2,8
TSAP 17	T11GC-12	K16.1 C7		1,8
TSAP 18	T11GG-5	K3.1 D2	EST	2,0
TSAP 19	T11GG-23	K5.2 E 10	EST	1,5
TSAP 20	T11GG-23	K5.1 A12		1,7
TSAP 21	T11GG-23	K5.1 A1	EST	2,1
TSAP 22	T11GG-5	K3.1 A12	EST	2,8
TSIP 3	T11AC-5	K33.1 B11	EST	9,5

* les chiffres et les séquences des amorces en 5' correspondent à ceux
5 rapportés par Bauer et al.

α HUMKGIDD ARNm humain pour l'ORF (équivalent humain de la
chaperonine de souris contenant le gène TCP-1 (t-complexe polypeptide).

TABLEAU 1 (suite)

CLONE A EXPRESSION DIFFERENTIELLE	MODELE U937/USJ-US4		CLONE A EXPRESSION DIFFERENTIELLE	MODELE M1/LTR 6	
	RESULTAT	mRNA kb		RESULTAT	MRNA kb
TSAP 9	EXP. DIFF.	2,0	TSAP 9	EXP. DIFF.	2,6
TSAP 10	NO EXP. DIFF.	1,6	TSAP 10	NO SIGNAL	1,6
TSAP 11	NO EXP. DIFF.	2,8	TSAP 11	NO SIGNAL	2,9
TSAP 12	NO SIGNAL		TSAP 12	NO SIGNAL	5,5
TSAP 13	EXP. DIFF.	1,5	TSAP 13	EXP. DIFF.	1,8
TSAP 14	EXP. DIFF.	2,8	TSAP 14	EXP. DIFF.	2,5
TSAP 15	EXP. DIFF.	1,8	TSAP 15	NO SIGNAL	1,6
TSAP 16	EXP. DIFF.	2,0	TSAP 16	EXP. DIFF.	2,8
TSAP 17	EXP. DIFF.	1,9	TSAP 17	EXP. DIFF.	1,8
TSAP 18	NO EXP. DIFF.	1,8	TSAP 18	EXP. DIFF.	2,0
TSAP 19	EXP. DIFF.	1,6	TSAP 19	NO SIGNAL	1,5
TSAP 20	EXP. DIFF.	1,9	TSAP 20	NO SIGNAL	1,7
TSAP 21	EXP. DIFF.	1,9	TSAP 21	EXP. DIFF.	2,1
TSAP 22	EXP. DIFF.	2,6	TSAP 22	EXP. DIFF.	2,8
TSIP 3	NO SIGNAL		TSIP 3	NO SIGNAL	9,5

EXP DIFF. = Expression différentielle

5 NO EXPR. DIFF. = Pas d'expression différentielle

Le Tableau 2 ci-après résume l'expression différentielle de certains clones TSAP et TSIP dans différentes lignées de transfectants.

10 Il se dégage de ce tableau que, dans la majeure partie des cas, les transfectants p21 ou transfectants TSAP3 ou transfectants antisens-TSIP2 sont capables d'activer la machinerie moléculaire de la suppression tumorale commune aux systèmes U937/US et K562/KS.

TABLEAU 2

CLONE	TRANSFECTANTS P21 EXPRESSION DIFFERENTIELLE	TRANSFECTANTS TSAP3 EXPRESSION DIFFERENTIELLE	TRANSFECTANTS TSIP2 ANTISENS EXPRESSION DIFFERENTIELLE
TSAP9	OUI	OUI	OUI
TSAP10	NON	NON	NON
TSAP11	NON	NON	NON
TSAP12	NON	NON	NON
TSAP13	OUI	OUI	OUI
TSAP14	OUI	OUI	OUI
TSAP15	OUI	OUI	OUI
TSAP16	NON	OUI	NON
TSAP17	OUI	NON	NON
TSAP18	NON	OUI	OUI
TSAP19	NON	NON	NON
TSAP20	ND*	ND*	ND*
TSAP21	OUI	NON	OUI
TSAP22	OUI	OUI	OUI
TSIP3	OUI	OUI	OUI

5 * Non déterminé

LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATIONS GENERALES:

- (i) DEPOSANT:
 - (A) NOM: FONDATION JEAN DAUSSET - CEPH
 - (B) RUE: 27, RUE JULIETTE DODU
 - (C) VILLE: PARIS
 - (E) PAYS: FRANCE
 - (F) CODE POSTAL: 75010
- (ii) TITRE DE L' INVENTION: SEQUENCES ASSOCIEES A LA SUPPRESSION DES
CANCERS ET A LA RESISTANCE AU PARVOVIRUS H-1
- (iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 15
- (iv) FORME DECHIFFRABLE PAR ORDINATEUR:
 - (A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk
 - (B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
 - (C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
 - (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (OEB)

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 1:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
NOM/CLE: TSAP9

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

TCGGTCATAG TCTGGATGGG ATTCATGATA TGAAGCAACA GCATGTCATA GAAACCTTGA	60
TTGGCAAAAA GCAACAGATA TCTCTTGCAA CACAAATGGT TAGAATGATT TTGAAGATTG	120
ATGACATTCC TAAGCCTGGA GAATCTGAAG AATGAAGACA TTGAGAAAAC TATGTAGTAA	180
GATCCACTTC TGTGATTAAG TAAATGGATG TCTCGTGATG CGTCTACAGT TATTTATTGT	240
TACATCCTTT TCCAGACACT GTAGATGCTA TAATAAAAAT AGCTGTTTGG TTAAAAAAA	300
AAA	303

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 2:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 107 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADnc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(NOM/CLE: TSAP10

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

TCGGTCATAG ATATGGAGTG GAAATTTGGA GTGACATCTG GGAGCAGCGA ATTGGAGAAA	60
GTGGGAAGTA TATTTTACA ACTAAAGTTG GTGGTAAAA AAAAAAA	107

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 100 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADnc

(ix) CARACTERISTIQUE:
NOM/CLE: TSAP11

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

TCGGTCATAG CGGTTCCAAG ATTAGCTTCT ACTGCTTCCT GTAGCTTGGC TAATATACTC	60
TGCTTTACAG CTGATGATAT GGTGTTGTTA AAAAAAAAAA	100

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 467 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
NOM/CLE : TSAP12

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

TGGTCATAG TAAATTCAGC ATGAAAGAGA ATATTACAGA AAAGACAGCA GCAGAACCAT	60
TAGCATTATC TAATATTTAT ATATGTTATC AACATAACAC AGCAGTAAAA GGTTTAAATG	120
CATATCAATC GGTACCATGT CTAAAAATTA CTATAGTACC TATTTAGTGT ATTGGATATT	180
TTTCTTAAAG AGTGTTTGCT GTAAC TAGAA CAGCATAATA CATGATTTAG TACAGTTAAT	240
TCTTATTGAT TAAATAATGT ATTTATGTAC TGAAGAAAGT GAAAAGGAGA CAGATATTTT	300
TTGCTTCATT TTGATTCCAG ATTTAACATT TAAATGAAGA TTCCAAAGGA CCATGACATG	360
TCATTATTTA ACTGAAATGG GCTTCAAAAT ATTTAAAAGA CGGTATGATT TGTATCTAAA	420
CAGCAAGGTG GCACCAGATA CACGTAATGC TACTGGCCTA TGACCGA	467

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 154 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
NOM/CLE: TSAP13

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

AAAGCAGAGG GGTTTATTAT AGGAACATTC TCAAACCGCA ACGGAAAAGA TGTCCGTACA	60
GGTGGATGGG GATGGAGATC CACCTCGGAG TACACAGACT TCAGGGGGCC TCCTGCCTGG	120
CACGTTCTTT CTCTCCCGTA TCACCTATGA CCGA	154

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 6:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 102 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

- (ix) CARACTERISTIQUE:
 - (A) NOM/CLE: TSAP14

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

GGAACCAATC CTAAAGAATA TTCTTACATA TAATAAAGAA TTCCCATTTG ATGTTTCAGCC	60
TGTCCCATTA AGAAGAATTT TGGCACCTGG TAAAAAAAAA AA	102

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 7:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 56 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

- (ix) CARACTERISTIQUE:
 - (A) NOM/CLE: TSAP15

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

GATTCTTTTA ATATTTTCAC AATGTTAAAA CTAAACTGA GCTCTAGGCT ATGATC	56
--	----

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 8:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 90 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: TSAP16

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

TGGATTGCTC CAGGATTGGG GTTTTGCTAG TCCATAGCAA TTCGAAGGGC AGTGGGCTAG	60
TGTTATGACA ATATTGCCAA AAAAAAAAAA	90

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 9:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 131 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: TSAP17

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

CTGCTTGATG TAGGAGGGAT TAAGTTAGTA TTTCCCGTAT CGACCAAGAC AAAATTACAA	60
TATACGCATA ACAAGACAA ACACCAGTTA CTTGGCTCAA TATCCAAGTT TTAACCTAGC	120
AAAAAAAAA A	131

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 121 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: TSAP18

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

GGAAACCAATC CCAACACAAC TGGATTCTAC TGAAATTACC ACATATTTGA GGTCCACAAG	60
CACAACTATA GATCTAATGC AAAGTGGGCT CAGATTAGCA GATCCATGCC AAAAAAAAAA	120
A	121

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 444 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: TSAP19

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

TTTTTTTTTT TGGGACAGTC TTGCTGTATT GCCCAGGCTG GAGTGTGGTG GCACAATCAC	60
AGCTCATTCG ATCCTCAATC ACCCAGGCCT AAGCAATCCT CCCACCTTGT AGCTGGGACT	120
ACAGCTCACA GCACACCTGG CTAAAATTTT TTTTTTGTG AGACGGATTG TCTATGTTGC	180
CCAGGCTGGT CTCAGGCTCC TGGGCTCAGA TGGTCCTCCT GCCTCAGCTT CCAAAGGCAC	240
AGGCCAAGTT GTAGCTTTGT CCCTTGCCAT CATGCCCAAC AAGAGGTTCT ATACCTTTTA	300
ATGAATTGAC TTTCATAAAT TGGTTATGTT GGTGGGCAAG TTCTTTAAGC TGGAAATTGT	360
AAATTCCTCC TGAAATGTTT TTTCATGCAG TTACCATGAA CTAATACTAC AATAAAGGAT	420
GGTCTTGGGT GCCAAAAAAA AAAA	444

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 12:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 151 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP20

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

GATCTGACTG TAGGACTAT ATTCATTACT GCTGGACTAT GCTGCTTTCC CCAACCCCT	60
AGCATTTTAA AAATAGCAG CTGCACTTGA AACAGGGGAA GACACTGTAT AACATCCAAA	120
TGTTCTTCTT CCCTAGAGGC CAAAAAAAAA A	151

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 13:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 240 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP21

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

GATCTGACTG TAGGGTGAAT GTCTGAGGCC TGCCTCCTAA TAAAGACTCA AGGAGGAAGT	60
CAATTGGGCA TCTGCTAATA GAATGAACTC ATGATGGAAA CTTCAGTTCA TTTACTTTGT	120
CCTGAAAATT CCCTGGTTCT GTTCCATTTT GAGCGAAATT GGCCTTGGGA AAAACCACGT	180
TCTTCCTTTC CGATTCTTCA TCCGGTCTAC GCTATGCAAT TCCTCCCCAA AAAAAAAAAA	240

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 14:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 260 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP22

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

GGAACCAATC AGTAATTTTA AGGTTTTTGT TGTTCATAAT GTAAGAGTTC AGACTCACAT	60
TGTATTAAAA TTTAGCCCTA AAATGACAAG CCTTCTTAA GCCTTATTTT TCAAAAGCGC	120
CCCCCCCATT CTTGTTCAGA TTAAGAGTTG CCAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAGAAAAAGA	180
AAAAAAGAG AAAGAAATGA GAAAGAAATG AGCTTCTAGA TCAATTAGCA GTGTGTGTGT	240
GTGTGTGCCA AAAAAAAAAA	260

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 15:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 144 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSIP3

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 15:

GGAACCAATC CAAATGCCCA TCAATGATAG ACTAGATAAA GAAAATATAG TACATATGCA	60
CCATGTAATA CTATGCAGCC GTAAAAAAAA AAAAAAAAAA AGACAGACAA GGCCAAGGCC	120
AGGCACGGTG GGTAAAAAAAA AAAA	144

REFERENCES

- (1) Liang P. & Pardee A.B. (1992) Science, 257, 967-971
- (2) Don R.H., Cox P.T., Wainwright B.J., Baker K. & Mattick J.S. (1991)
5 Nucl. Acids Res., 19, 4008
- (3) Yonish-Rouach E., Resnitzky D., Lotem J., Sachs L., Kimchi A. & Oren M. (1991) Nature 352, 345-347
- (4) Bauer D., Muller H., Reich J., Riedel H., Ahrenkiel V., Warthoe P. & Strauss M. (1993) Nucl. Acids Res. 21, 4272-4280
- 10 (5) Sambrook J., Fritsch E.F. & Maniatis T. (1989) Molecular Cloning : a laboratory manual
- (6) Okamoto K. & Beach D. (1994) EMBO J., 13, 4816-4822
- (7) Nemani M., Linares-Cruz G., Bruzzoni-Giovanelli H., Roperch J.-P., Tuynder M., Bougueleret L., Cherif D., Medhioub M., Pasturaud P., Alvaro V., Der Sarkissian H., Cazes L., Le Paslier D., Le Gall I., Israeli D., Dausset J., Sigaux F., Chumakov I., Oren M., Calvo F., Amson R. B., Cohen D. and Telerman A., Activation of the human homologue of the Drosophila sina gene in apoptosis and tumor suppression, Proc. Nati. Acad. Sci. USA (1996) 93, 9039-9057
- 15 (8) Roperch J.-P., Alvaro V., Prieur S., Tuynder M., Nemani M., Lethrosne F., Piouffre L., Gendron M-G., Israeli D., Dausset J., Oren M., Amson R., and Telerman A., Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21 WAF-1 and results in apoptosis and tumor suppression, Nature Medicine (1998) 4, 835-838.

REVENDEICATIONS

1) Séquence nucléotidique correspondant à un gène comportant:

- 5 (a) une séquence selon l'une des IND.SEQ 1 à 15 ou
un gène équivalent qui comporte:
(b) une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a),
(c) une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec (a) ou (b), ou
(d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b)
10 ou (c) ou pour une protéine équivalente.

2) Séquence selon la revendication 1, caractérisée en ce que
l'expression cellulaire du gène est induite lors de l'apoptose et/ou suppression
tumorale.

3) Séquence selon la revendication 2, caractérisée en ce que
15 l'apoptose et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.

4) Séquence selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce
qu'elle est choisie parmi TSAP 9 à TSAP 22 ou un gène équivalent.

5) Séquence selon la revendication 4, caractérisée en ce que
l'apoptose et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.

20 6) Séquence selon l'une des revendication 1, caractérisée en ce
qu'elle correspond au gène TSIP 3 ou un gène équivalent.

7) Séquence selon la revendication 6, caractérisée en ce que
l'expression cellulaire du gène est inhibée lors de l'apoptose et/ou la
suppression tumorale.

25 8) Séquence selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce
que l'expression cellulaire du gène est activée par l'un au moins des
transfectants choisi dans le groupe comprenant les transfectants p21, les
transfectants TSAP3 et les transfectants antisens TSIP2.

9) Vecteur d'expression cellulaire d'une séquence selon l'une des
30 revendications 1 à 8.

10) Vecteur d'expression selon la revendication 9, caractérisé en ce

qu'il s'agit d'un vecteur viral.

11) Vecteur selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un adénovirus, d'un rétrovirus, d'un virus herpès ou d'un poxvirus.

12) Vecteur selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'il s'agit
5 d'un vecteur à acide nucléique nu.

13) Vecteur selon l'une des revendications 9 à 12, caractérisé en ce qu'il comporte une séquence assurant le ciblage et/ou l'expression tissu spécifique.

14) Cellule transformée par un vecteur d'expression selon l'une des
10 revendications 9 à 13.

15) Protéine pouvant être obtenue par culture de cellule transformée selon la revendication 14 et codée par la séquence selon l'une des revendications 1 à 8.

16) A titre de médicament, un vecteur selon l'une des revendications
15 9 à 13 ou une protéine selon la revendication 14.

17) A titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques selon l'une des revendications 1 à 4 ou de leurs produits.

18) A titre de médicament selon la revendication 16, un vecteur
20 nucléotidique assurant l'expression cellulaire de ladite séquence.

19) A titre de médicament, un composé assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins un gène cellulaire selon l'une des revendications 1, 5 à 8 ou de leurs produits.

20) A titre de médicament selon la revendication 19, un nucléotide
25 activé assurant la blocage de la séquence nucléotidique.

21) A titre de médicament selon la revendication 19, un anticorps monoclonal dressé contre la ou les protéines codées par la séquence nucléotidique.

22) A titre de médicament destiné au traitement du cancer, un
30 médicament selon l'une des revendications 16 à 21.

23) A titre d'agent antiviral, un médicament selon l'une des

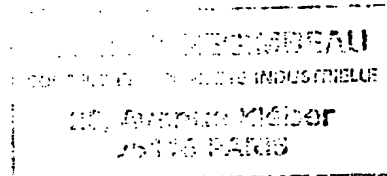
revendications 16 à 21.

24) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivi des cancers, tout ou partie des séquences selon l'une des revendications 1 à 8 à utiliser comme sonde nucléotidique ou comme
5 amorce d'amplification.

25) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivant des cancers, un antigène correspondant à tout ou partie des protéines codées par la séquence selon l'une des revendications 1 à 8 ou les anticorps correspondants.

10 26) Modèle pour la mise en évidence de médicament anti-cancéreux, et/ou antiviral des cellules selon la revendication 14.

RECEVEUR



(d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b) ou (c) ou pour une protéine équivalente, et leur application notamment dans la suppression du cancer et/ou la résistance aux virus ainsi que dans le suivi thérapeutique.

5 Il convient de rappeler que les séquences 1 à 15 ne constituent qu'une partie des gènes en cause mais que la présente invention couvre aussi bien la séquence nucléotidique correspondant au gène entier que des fragments de ce gène, notamment lorsqu'ils codent pour une protéine équivalente comme cela sera décrit ci-après.

10 Les séquences nucléotidiques peuvent être aussi bien de l'ADN que de l'ARN ou des séquences dans lesquelles certains des nucléotides sont non naturels, soit pour améliorer leurs propriétés pharmacologiques, soit pour permettre leur identification.

15 Les séquences mentionnées en (b) sont essentiellement les séquences complémentaires totales ou partielles (notamment pour les cas évoqués précédemment).

20 Ainsi, l'invention concerne également les séquences nucléotidiques des gènes présentant une forte homologie avec les gènes mentionnés précédemment, de préférence une homologie supérieure à 80 % sur les parties essentielles desdits gènes, soit en général au moins 50 % de la séquence, de préférence l'homologie sera sur ces parties supérieure à 90 %.

25 Enfin, lorsque lesdits gènes codent pour une protéine, la présente invention concerne également les séquences codant pour la même protéine, compte tenu de la dégénérescence du code génétique, mais également pour les protéines équivalentes, c'est-à-dire produisant les mêmes effets, notamment les protéines délétées et/ou ayant subi des mutations ponctuelles.

30 Les séquences selon la présente invention sont plus particulièrement les séquences qui sont induites ou inhibées lors de l'apoptose cellulaire, notamment celles induites par p53 et/ou p21 et/ou TSAP3 (HUMSLAH) et/ou antisens-TSIP2 (antisens-PS1). En d'autres termes, ces séquences correspondent à des gènes dont l'expression cellulaire est activée par l'un au moins des transfectants choisi dans le groupe comprenant les transfectants p21, les transfectants TSAP3 et les transfectants anti-sens TSIP2.

Lesdits gènes sont regroupés en TSAP ou "Tumor Suppressor Activated

Dans la plupart des cas, il faudra prévoir des éléments de ciblage assurant une expression tissus ou organes spécifiques, en effet, il n'est pas possible d'envisager d'activer un phénomène d'apoptose incontrôlé.

La présente invention concerne donc l'ensemble des vecteurs décrits
5 précédemment.

La présente invention concerne également les cellules transformées par un vecteur d'expression tel que décrit précédemment ainsi que la protéine pouvant être obtenue par culture de cellules transformées.

Les systèmes d'expression pour produire des protéines peuvent être
10 aussi bien des systèmes eucaryotes tels que les vecteurs précédents que des systèmes procaryotes dans des cellules de bactéries.

I.'un des intérêts de la présente invention est qu'elle a mis en évidence l'implication de plusieurs gènes dans l'apoptose ; ainsi, la surexpression de l'un des gènes par thérapie génique peut, pour certains d'entre eux, ne conduire à
15 l'apoptose que les cellules dans lesquelles s'expriment déjà d'autres gènes déréglés, c'est-à-dire des cellules malignes.

La présente invention concerne également, à titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques précédentes lorsqu'elle est induite lors de l'apoptose et/ou de la
20 suppression tumorale, notamment des gènes TSAP 9 à TSAP 22, ou au contraire assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins une séquence cellulaire telle que décrite précédemment lorsqu'elle est inhibée lors de l'apoptose et/ou de la suppression tumorale, notamment TSIP 3. Il peut s'agir par exemple d'un nucléotide activé assurant le blocage de la séquence
25 nucléotidique ou encore d'un anticorps monoclonal dressé contre la ou les protéine(s) codée(s) par la séquence nucléotidique.

Par ailleurs, il est possible de prévoir d'autres approches que la thérapie génique, notamment l'utilisation de séquences nucléotidiques en stratégie sens ou antisens, c'est-à-dire pouvant bloquer l'expression de TSIP ou au contraire,
30 agissant en amont, favorisant l'expression de TSAP.

On peut également prévoir une stratégie de remplacement directe par apport de protéines correspondant à TSAP ou d'anticorps inhibiteurs correspondant à TSIP.

Enfin, il est possible de prévoir l'utilisation de molécules non protéiques

LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATIONS GENERALES:

- (i) DEPOSANT:
(A) NOM: FONDATION JEAN DAUSSET - CEPH
(B) RUE: 27, RUE JULIETTE DODU
(C) VILLE: PARIS
(E) PAYS: FRANCE
(F) CODE POSTAL: 75010
- (ii) TITRE DE L' INVENTION: SEQUENCES ASSOCIEES A LA SUPPRESSION DES
CANCERS ET A LA RESISTANCE AU PARVOVIRUS H-1
- (iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 15
- (iv) FORME DECHIFFRABLE PAR ORDINATEUR:
(A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk
(B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
(C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
(D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (OEB)

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 1:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 303 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:
NOM/CLE: TSAP9

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

TCGGTCATAG TCTGGATGGG ATTCATGATA TGAAGCAACA GCATGTCATA GAAACCTTGA	60
TTGGCAAAAA GCAACAGATA TCTCTTGCAA CACAAATGGT TAGAATGATT TTGAAGATTG	120
ATGACATTCG TAAGCCTGGA GAATCTGAAG AATGAAGACA TTGAGAAAAC TATGTAGTAA	180
GATCCACTTC TGTGATTAAG TAAATGGATG TCTCGTGATG CGTCTACAGT TATTTATTGT	240
TACATCCTTT TCCAGACACT GTAGATGCTA TAATAAAAAT AGCTGTTTGG TTAAAAAAA	300
AAA	303

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 2:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 107 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(NOM/CLE: TSAP10

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

TCGGTCATAG ATATGGAGTG GAAATTTGGA GTGACATCTG GGAGCAGCGA ATTGGAGAAA	60
GTGGGAAGTA TATTTTACATA ACTAAAGTTG GTGGTTAAAA AAAAAAA	107

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 100 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
NOM/CLE: TSAP11

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

TCGGTCATAG CGGTTCCAAG ATTAGCTTCT ACTGCTTCCT GTAGCTTGGC TAATATACTC	60
TGCTTTACAG CTGATGATAT GGTGTTGTTA AAAAAAAAAA	100

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 467 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
NOM/CLE : TSAP12

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

TCGGTCATAG TAAATTCAGC ATGAAAGAGA ATATTACAGA AAAGACAGCA GCAGAAGCAT	60
TAGCATTATC TAATATTTAT ATATGTTATC AACATAACAC AGCAGTAAAA GGTTTAAATG	120
CATATCAATG GGTACCATGT CTAAAAATTA CTATAGTACC TATTTAGTGT ATTGGATATT	180
TTTCTTAAAG AGTGTGTTGCT GTAAC TAGAA CAGCATAATA CATGATTTAG TACAGTTAAT	240
TCTTATTGAT TAAATAATGT ATTTATGTAC TGAAGAAAGT GAAAAGGAGA CAGATATTTT	300
TTGCTTCATT TTGATTCCAG ATTTAACATT TAAATGAAGA TTCCAAAGGA CCATGACATG	360
TCATTATTTA ACTGAAATGG GCTTCAAAAT ATTTAAAAGA CGGTATGATT TGTATCTAAA	420
CAGCAAGGTG GCACCAGATA CACGTAATGC TACTGGCCTA TGACCGA	467

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 154 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
NOM/CLE: TSAP13

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

AAAGCAGAGG GGTTTATTAT AGGAACATTC TCAAACCGCA ACGGAAAAGA TGTC CGTACA	60
GGTGGATGGG GATGGAGATC CACCTCGGAG TACACAGACT TCAGGGGGCC TCCTGCCTGG	120
CACGTTCTTT CTCTCCCGTA TCACCTATGA CCGA	154

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 6:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 102 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

- (ix) CARACTERISTIQUE:
 - (A) NOM/CLE: TSAP14

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

GGAACCAATC CTAAAGAATA TTCTTACATA TAATAAAGAA TTCCCATTTG ATGTTTCAGCC	60
TGTCCCATTA AGAAGAATTT TGGCACCTGG TAAAAA AAAA AA	102

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 7:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 56 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

- (ix) CARACTERISTIQUE:
 - (A) NOM/CLE: TSAP15

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

GATTCTTTTA ATATTTTCAC AATGTTAAAA CTAAAACTGA GCTCTAGGCT ATGATC	56
---	----

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 8:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 90 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: TSAP16

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

TGGATTGGTC CAGGATTGGG GTTTTGCTAG TCCATAGCAA TTCGAAGGGC AGTGGGCTAG	60
TGTTATGAGA ATATTGGCAA AAAAAAAAAA	90

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 9:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 131 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: TSAP17

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

CTGCTTGATG TAGGAGGGAT TAAGTTAGTA TTTCCCGTAT CGACCAAGAC AAAATTACAA	60
TATACGCATA ACAAAGACAA ACACCAGTTA CTTGGCTCAA TATCCAAGTT TTAACCTAGC	120
AAAAAAAAA A	131

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 121 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: TSAP18

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

GGAACCAATC CCAACACAAC TGGATTCTAC TGAAATTACC ACATATTTGA GGTCCACAAG	60
CACAAGTATA GATCTAATGC AAAGTGGGCT CAGATTAGCA GATCCATGCC AAAAAAAAAA	120
A	121

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 444 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: TSAP19

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

TTTTTTTTTT TGGGACAGTC TTGCTGTATT GCCCAGGCTG GAGTGTGGTG GCACAATCAC	60
AGCTCATTCG ATCCTCAATC ACCCAGGCCT AAGCAATCCT CCCACCTTGT AGCTGGGACT	120
ACAGCTCACA GCACACCTGG CTAAATTTT TTTTTTGTTG AGACGGATTC TCTATGTTGC	180
CCAGGCTGGT CTCAGGCTCC TGGGCTCAGA TGGTCCTCCT GCCTCAGCTT CCAAAGGCAC	240
AGGCCAAGTT GTAGCTTTGT CCCTTGCCAT CATGCCCAAC AAGAGGTTCT ATACCTTTTA	300
ATGAATTGAC TTTCATAAAT TGGTTATGTT GGTGGGCAAG TTCTTTAAGC TGGAATTGT	360
AAATTCCTCC TGAAATGTTT TTTCATGCAG TTACCATGAA CTAATACTAC AATAAAGGAT	420
GGTCTTGGGT GCCAAAAAA AAAA	444

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 12:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 151 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: TSAP20

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

GATCTGACTG TAGGGACTAT ATTCATTACT GCTGGACTAT GCTGCTTTCC CCAACCCCCT	60
AGGATTTTAA AAATAGCACG CTGCACTTGA AACAGGGGAA GACACTGTAT AACATCCAAA	120
TGTTCTTCTT CCCTAGAGGC CAAAAAAAAA A	151

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 13:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 240 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: TSAP21

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

GATCTGACTG TAGGGTGAAT GTCTGAGGCC TGCCTCCTAA TAAAGACTCA AGGAGGAAGT	60
CAATTGGGCA TCTGCTAATA GAATGAACTC ATGATGGAAA CTTCA GTTCA TTTACTTTGT	120
CCTGAAAATT CCCTGGTTCT GTTCCATTTT GAGCGAAATT GGCCTTGGGA AAAACCCACGT	180
TCTTCCTTTC CGATTCTTCA TCCGGTCTAC GCTATGCAAT TCCTCCCCAA AAAAAAAAAA	240

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 14:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 260 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simpl
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP22

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

GGAACCAATC AGTAATTTTA AGGTTTTGTT TGTTCTAAAT GTAAGAGTTC AGACTCACAT	60
TCTATTAAAA TTTAGCCCTA AAATGACAAG CCTTCTTAAA GCCTTATTTT TCAAAAGCGC	120
CCCCCCCATT CTTGTTTCTA TTAAGAGTTG CCAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAGAAAAAGA	180
AAAAAAGAG AAAGAAATGA GAAAGAAATG AGCTTCTAGA TCAATTAGCA GTGTGTGTGT	240
GTGTGTGCCA AAAAAAAAAA	260

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 15:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 144 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSIP3

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 15:

GGAACCAATC CAAATGCCCA TCAATGATAG ACTAGATAAA GAAAATATAG TACATATGCA	60
CCATGTAATA CTATGCAGCC GTAAAAAAAA AAAAAAAAAA AGACAGACAA GGCCAAGGCC	120
AGGCACGGTG GGTAAAAAAAA AAAA	144

REVENDICATIONS

- 1) Séquence nucléotidique correspondant à un gène comportant:
 - 5 (a) une séquence selon l'une des IND.SEQ 1 à 15 ou un gène équivalent qui comporte:
 - (b) une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a),
 - (c) une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec (a) ou (b), ou
 - (d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b)
 - 10 ou (c) ou pour une protéine équivalente, caractérisée en ce que l'expression cellulaire du gène est induite ou inhibée lors de l'apoptose et/ou suppression tumorale.
- 2) Séquence selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'apoptose et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.
- 15 3) Séquence selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce qu'elle est choisie parmi TSAP 9 à TSAP 22 ou un gène équivalent.
- 4) Séquence selon la revendication 3, caractérisée en ce que l'apoptose et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.
- 5) Séquence selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle
- 20 correspond au gène TSIP 3 ou un gène équivalent.
- 6) Séquence selon la revendication 5, caractérisée en ce que l'expression cellulaire du gène est inhibée lors de l'apoptose et/ou la suppression tumorale.
- 7) Séquence selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce
- 25 que l'expression cellulaire du gène est activée par l'un au moins des transfectants choisis dans le groupe comprenant les transfectants p21, les transfectants TSAP3 et les transfectants antisens TSIP2.
- 8) Vecteur d'expression cellulaire d'une séquence selon l'une des revendications 1 à 7.
- 9) Vecteur d'expression selon la revendication 8, caractérisé en ce
- 30 qu'il s'agit d'un vecteur viral.

10) Vecteur selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un adénovirus, d'un rétrovirus, d'un virus herpès ou d'un poxvirus.

11) Vecteur selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un vecteur à acide nucléique nu.

5 12) Vecteur selon l'une des revendications 8 à 11, caractérisé en ce qu'il comporte une séquence assurant le ciblage et/ou l'expression tissu spécifique.

13) Cellule transformée par un vecteur d'expression selon l'une des revendications 8 à 12.

10 14) Protéine pouvant être obtenue par culture de cellule transformée selon la revendication 13 et codée par la séquence selon l'une des revendications 1 à 7.

15) A titre de médicament, un vecteur selon l'une des revendications 8 à 12 ou une protéine selon la revendication 14.

15 16) A titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques selon l'une des revendications 1 à 3 ou de leurs produits.

17) A titre de médicament selon la revendication 15, un vecteur nucléotidique assurant l'expression cellulaire de ladite séquence.

20 18) A titre de médicament, un composé assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins un gène cellulaire selon l'une des revendications 1, 4 à 7 ou de leurs produits.

19) A titre de médicament selon la revendication 18, un nucléotide activé assurant la blocage de la séquence nucléotidique.

25 20) A titre de médicament selon la revendication 18, un anticorps monoclonal dressé contre la ou les protéines codées par la séquence nucléotidique.

21) A titre de médicament destiné au traitement du cancer, un médicament selon l'une des revendications 15 à 20.

30 22) A titre d'agent antiviral, un médicament selon l'une des revendications 15 à 20.

23) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivi des cancers, tout ou partie des séquences selon l'une des revendications 1 à 7 à utiliser comme sonde nucléotidique ou comme amorce d'amplification.

5 24) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivant des cancers, un antigène correspondant à tout ou partie des protéines codées par la séquence selon l'une des revendications 1 à 7 ou les anticorps correspondants.

10 25) Modèle pour la mise en évidence de médicament anti-cancéreux, et/ou antiviral des cellules selon la revendication 13.